



DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871



LIAISON® HBeAg ([REF] 310150)

1. ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

В тесте LIAISON® HBeAg используется метод хемилюминесцентного иммунологического анализа (ИХЛА) для количественного определения антигена е вируса гепатита В (HBeAg) в образцах плазмы или сыворотки человека. Количественное определение антигена е вируса гепатита В (HBeAg) позволяет отслеживать репликационную активность / ответ на лечение (напр. интерферон) (20).

Тест должен проводиться на анализаторах линейки LIAISON®.

2. КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ ПО ТЕСТУ

Гепатит представляет собой воспалительное заболевание печени, которое может серьезно повредить орган. Заболевание может возникнуть по причинам, не связанным с инфекциями, или вследствие воздействия вирусных или бактериальных агентов (6).

Вирусный гепатит В представляет собой эндемическое заболевание, присутствующее по всему миру (11, 13, 19). Преимущественно инфекция передается посредством чужеродного контакта с инфицированной кровью, напр. при использовании одной иглы наркоманами или переливании продуктов крови, которые не были исследованы на вирус гепатита В (ВГВ) (3, 6, 11, 16). Вирус гепатита В (ВГВ) также был найден фактически в каждом типе биологических жидкостей организма человека; известно, что он распространяется посредством орального и полового контакта (3, 6, 11, 16). ВГВ может внутриутробно передаваться от матери к ребенку (3).

Инкубационный период для гепатита В составляет приблизительно 90 дней (диапазон варьируется от 40 до 180 дней). Общие симптомы включают чувство дискомфорта, повышение температуры, гастроэнтерит и желтуху (7, 11). Инфекция ВГВ может привести к возникновению (а) желтушного гепатита; (б) субклинического безжелтушного гепатита; (в) молниеносного гепатита; (d) хронического активного или персистирующего гепатита (6, 11). Более 90% взрослых пациентов с гепатитом В полностью выздоравливают после перенесенного острого заболевания, приблизительно 1% умирает от молниеносного гепатита, и приблизительно от 6 до 10% становятся хроническими носителями активного или персистирующего гепатита (6, 11, 12).

Вирус гепатита В (ВГВ) представляет собой вирион, диаметром в 42 нм, состоящий из наружной оболочки, в которой содержится поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) (10, 17). Оболочка окружает внутреннее ядро, в котором содержится ядерный антиген вируса гепатита В (HBcAg) (4, 8, 14). Внутри ядра находится геном ВГВ-ДНК. Другой антиген, антиген е вируса гепатита В (HBeAg), представляет собой вирусный сердцевинный белок, выявляемый в кровотоке во время активной репликации ВГВ (6, 18).

Поскольку ВГВ очень трудно выделить в клеточной культуре, диагностика гепатита В была основана на определении серологических маркеров (6, 11). Тестирование на эти маркеры помогает определить наличие перенесенной или текущей ВГВ инфекции, острую или хроническую стадию заболевания, ответ на лечение или иммунный статус пациента (6, 9).

При нормальном течении острой формы инфекции гепатита В, антиген е вируса гепатита В (HBeAg), вместе с поверхностным антигеном вируса гепатита В (HBsAg) и ВГВ-ДНК (HBV-DNA) возможно определить в сыворотке пациента в течение инкубационного периода, до начала клинических симптомов (12). При возникновении клинических симптомов, уровни антигена е Вируса гепатита В (HBeAg), поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и ВГВ-ДНК (HBV-DNA) достигают пиковых значений и затем начинают уменьшаться (9, 12, 15). Антиген е вируса гепатита В (HBeAg) обычно исчезает перед исчезновением поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg); однако, в меньшинстве случаев происходит обратное. Антитела к антигену е вируса гепатита В (anti-HBe) появляются в сыворотке после того, как поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) не определяются более, и они могут присутствовать в течение нескольких лет после перенесенной пациентом острой инфекции ВГВ (12).

С диагностической точки зрения, присутствие HBeAg в сыворотке указывает на активную репликацию ВГВ (5); данное явление может возникать у лиц с острым гепатитом В или у лиц, которые стали хроническими

носителями ВГВ, с постоянным присутствием HBsAg. Постоянное присутствие HBeAg часто связано с хронически повышенными уровнями ферментов печени. Лица, имеющие HBeAg-положительные результаты, считаются острозаразными гепатитом В (2); однако, отсутствие HBeAg не указывает на отсутствие инфективности.

В последнее время отмечается наличие мутантного штамма ВГВ (1) у пациентов Азиатского или Средиземноморского бассейна. Данный штамм характеризуется мутацией в «pre-core» зоне вирусного генома, которая предотвращает секрецию HBeAg, несмотря на продолжающуюся репликацию вируса, высокие уровни ВГВ-ДНК и активное заболевание печени.

3. ПРИНЦИП ПРОЦЕДУРЫ

Метод для количественного определения антигена е вируса гепатита В (HBeAg) представляет собой прямой сэндвич-хемилюминесцентный иммунологический анализ (ИХЛА). Антитела к HBeAg (мышинные моноклональные) используются для покрытия магнитных частиц (твердая фаза) и связываются с производным изолюминола (конъюгат изолюминол-антитело). Во время инкубации конъюгат на основе антитела вступает в реакцию с HBeAg, присутствующим в калибраторах, образцах или контролях, и таким образом может связаться с твердой фазой и образовать сэндвич. После инкубации несвязанный материал удаляется посредством цикла промывки.

Далее добавляют стартовые реагенты и таким образом индуцируется реакция световой хемилюминесценции. Световой сигнал и, следовательно, количество конъюгата изолюминол-антитело измеряется фотоумножителем в виде относительных световых единиц (RLU) и указывает на концентрацию HBeAg, присутствующую в калибраторах, образцах или контролях.

4. ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Модуль реагентов

Магнитные частицы (2.3 мл)	[SORB]	Магнитные частицы, покрытые антителами к HBeAg (мышинные моноклональные), БСА, фосфатный буфер, < 0.1% азид натрия.
Калибратор 1 (1.2 мл)	[CAL1]	Сыворотка / плазма человека, содержащая низкие уровни HBeAg (полученные в E. coli, методом рекомбинантных ДНК), TRIS буфер, 0.2% ProClin® 300, консерванты. Концентрации калибратора (PEI Ед/мл) ссылаются на препарат Эталонного HBe-антигена 82 Института имени Пауля Эрлиха (PEI, Германия).
Калибратор 2 (1.2 мл)	[CAL2]	Сыворотка / плазма человека, содержащая высокие уровни HBeAg (полученные в E. coli, методом рекомбинантных ДНК), TRIS буфер, 0.2% ProClin® 300, консерванты, инертный синий краситель. Концентрации калибратора (PEI Ед/мл) ссылаются на препарат Эталонного HBe-антигена 82 Института имени Пауля Эрлиха (PEI, Германия).
Конъюгат (13 мл)	[CONJ]	Антитела к HBeAg (мышинные моноклональные), конъюгированные с производным изолюминола, сыворотка эмбриона теленка, неспецифические IgG (мышинные моноклональные), фосфатный буфер, 0.2% ProClin® 300, консерванты.
Количество тестов		100

Все реагенты поставляются готовыми к использованию. Порядок реагентов соответствует схеме расположения контейнеров в модуле реагентов.

Необходимые, но не предоставленные материалы (в зависимости от системы)

Анализатор LIAISON® XL

LIAISON® XL Кюветы ([REF] X0016).

LIAISON® XL Одноразовые наконечники ([REF] X0015).

LIAISON® XL Стартовый набор ([REF] 319200).

—

LIAISON® Промывочная/Системная жидкость ([REF] 319100).

LIAISON® XL Мешки для отходов ([REF] X0025).

—

Анализатор LIAISON®

LIAISON® Модуль ([REF] 319130).

–

LIAISON® Стартовый набор ([REF] 319102) или

LIAISON® XL Стартовый набор ([REF] 319200).

LIAISON® Light Check 12 ([REF] 319150).

LIAISON® Промывочная/Системная жидкость ([REF] 319100).

LIAISON® Мешки для отходов ([REF] 450003).

LIAISON® Набор для очистки ([REF] 310990).

Дополнительные необходимые материалы

LIAISON® HBeAg контроли (отрицательный и положительный) ([REF] 310151).

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для использования в диагностике ин-витро.

Вся сыворотка и плазма, используемая для производства компонентов, представленных в этом наборе, была протестирована на наличие поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к вирусу гепатита С, антител к ВИЧ-1, антител к ВИЧ-2, и была признана нереактивной. Поскольку, ни один метод тестирования не может дать абсолютной гарантии отсутствия патогенов, то все образцы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные и с ними следует обращаться с осторожностью.

6. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

Не ешьте, не пейте, не курите и не пользуйтесь косметикой в аналитической лаборатории.


Не пипетируйте при помощи рта.

Избегайте прямого контакта с потенциально инфицированным материалом; используйте лабораторную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки. По окончании каждого теста тщательно мойте руки.

Избегайте разбрызгивания или образования аэрозоля. Все капли биологического реагента должны быть удалены с помощью раствора гипохлорита натрия с содержанием 0.5%, активного хлора, а используемые для этого средства должны рассматриваться как зараженные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для анализа, должны рассматриваться как потенциально способные передавать возбудителей инфекции. Отходы должны обрабатываться с осторожностью и утилизироваться в соответствии с лабораторными руководствами и законодательными положениями, действующими в каждой стране. Любые материалы, предполагающие повторное использование, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местным законодательством и руководствами. Проверьте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания. Не используйте наборы или компоненты после даты истечения срока годности, указанной на этикетке.

В соответствии с Постановлением ЕС 1272/2008 (Классификация, маркировка, упаковка) опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом.

РЕАГЕНТЫ:	[CAL1] , [CAL2] , [CONJ]
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Кожный аллерген 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Предупреждение (Warning)
СИМВОЛЫ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 Восклицательный знак
ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызвать аллергическую реакцию кожи
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:	P261 Избегайте вдыхания пыли / дыма / газа / взвесей / паров / аэрозолей.

	<p>P280 Используйте защитные перчатки / защитную одежду / средства защиты глаз / средства защиты лица.</p> <p>P363 Перед повторным использованием стирайте загрязненную одежду.</p>
<p>СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со статьей 18 Постановления ЕС 1272/2008).</p>	<p>Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин -3-один [ЕС №247-500-7] и 2-метил-2Н -изотиазол-3-один [ЕС №220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).</p>

SORB

В соответствии с Постановлением ЕС 1272/2008 (Классификация, маркировка, упаковка), маркируется как EUN210 Паспорт безопасности материала предоставляется по запросу.

Для получения дополнительной информации, смотрите Паспорт безопасности материала, доступный на сайте www.diasorin.com.

7. ПОДГОТОВКА МОДУЛЯ РЕАГЕНТОВ

Пожалуйста, примите к сведению следующие важные указания по работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до момента помещения модуля в анализатор. Для обеспечения полного ресуспендирования, следуйте указанному ниже:

Перед снятием защитных мембран вращайте маленькое колесико с накаткой, расположенное на контейнере с магнитными частицами, до тех пор, пока цвет суспензии не изменится на коричневый. Легкое и осторожное смешивание из стороны в сторону может помочь в ресуспендировании магнитных частиц (избегайте образования пены). Визуально проверьте дно флакона с магнитными частицами для подтверждения того, что все осевшие магнитные частицы ресуспендированы. Аккуратно протрите поверхность каждой перегородки, чтобы удалить остаточную жидкость.

При необходимости повторяйте до тех пор, пока магнитные частицы полностью не ресуспендируются.

Вспенивание реагентов

Для обеспечения оптимальной работы модуля, следует избегать вспенивания реагентов. Придерживайтесь рекомендаций ниже во избежание образования вспенивания:

Перед использованием модуля визуально проверьте реагенты и в особенности калибраторы (позиция два и три после флакона с магнитными частицами) для того, чтобы удостовериться в отсутствии вспенивания. Если после ресуспендирования магнитных частиц присутствует вспенивание, поместите модуль в анализатор и дайте пене осесть. Модуль готов к использованию, если пена осела, модуль остался на борту и смешивание произведено.

Загрузка модуля в реагентную зону

Анализатор LIAISON®

- Поместите модуль в реагентную зону анализатора, расположив этикетку со штрих-кодом повернутой влево, и дайте постоять 30 минут перед использованием. Анализатор автоматически смешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

- Следуйте Руководству по эксплуатации анализатора для уточнения информации по загрузке образцов и запуску прогона.

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оборудован встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает диспергировать микрочастицы перед размещением модуля реагентов в реагентной зоне анализатора. Для уточнения информации, обратитесь к Руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте модуль реагентов в соответствующий слот.

б. Оставьте модуль реагентов в твердотельном магнитном устройстве минимум на 30 секунд (до нескольких минут). Повторите при необходимости.

- Поместите модуль в реагентную зону анализатора, расположив этикетку со штрих-кодом повернутой влево, и дайте постоять 15 минут перед использованием. Анализатор автоматически смешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.

- Следуйте Руководству по эксплуатации анализатора для уточнения информации по загрузке образцов и запуску прогона.

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ МОДУЛЯ РЕАГЕНТОВ

- **Невскрытые:** Стабильны до даты истечения срока годности при хранении при температуре 2-8°C.
 - **Вскрытые, при хранении на борту анализатора или при температуре 2-8°C:** Стабильны в течение минимум восьми недель. После указанного периода, все еще возможно продолжать использовать модуль реагентов, при условии, что контроли находятся в рамках ожидаемого диапазона.
 - Для уже вскрытого модуля реагентов всегда используйте один и тот же анализатор.
 - Используйте корзину для хранения, предоставленную с анализатором, для хранения модуля реагентов в вертикальном положении.
 - Не замораживать.
 - При хранении держите в вертикальном положении для облегчения впоследствии надлежащего процесса ресуспендирования магнитных частиц.
- Храните вдали от прямых солнечных лучей.

9. ОТБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Может использоваться сыворотка или плазма человека. С данным тестом были исследованы и могут быть использованы антикоагулянты цитрат, ЭДТА и гепарин. Кровь должна быть отобрана асептическим способом методом венопункции, нужно дать ей свернуться и отделить сыворотку от сгустка как можно скорее. Для образцов, содержащих твердые частицы, мутность, липемию или остатки эритроцитов, может потребоваться очистка посредством фильтрации или центрифугирования перед исследованием. Сильно гемолизированные или липемические образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы, или демонстрирующие очевидное микробное загрязнение, не должны исследоваться. Проверьте на наличие и удалите пузырьки воздуха перед исследованием. Если тест будет проведен в течение семи дней с момента отбора образца, то образцы можно хранить при температуре 2-8°C; в противном случае их следует разделить на части и хранить в условиях глубокой заморозки (-20°C и ниже). Если образцы хранятся в замороженном виде, хорошо смешайте оттаявшие образцы перед исследованием. Пять образцов с различной реактивностью хранились в течение семи дней при температуре 2-8°C и прошли пять циклов замораживания-оттаивания. Результаты не показали значительных различий. Минимальный необходимый объем составляет 240 мкл образца (90 мкл образец + 150 мкл мёртвый объем). Образцы, подвергнутые тепловой инактивации, не должны исследоваться).

10. КАЛИБРОВКА

Тестирование калибраторов, специфических для теста, позволяет скорректировать сохраненную эталонную кривую относительно установленных значений световых единиц (RLU).

Каждый калибровочный раствор позволяет провести четыре калибровки.

При наступлении любого из указанных случаев, следует произвести трехкратную калибровку:

- Используется новая серия модуля реагента или Стартового набора.
- Предыдущая калибровка выполнялась более четырех недель назад.
- Анализатор прошел техническое обслуживание.
- Контрольные значения выходят за пределы ожидаемого диапазона.

Анализатор LIAISON®: Калибровочные значения сохранены в штрих-кодах этикетки модуля.

Анализатор LIAISON® XL: Калибровочные значения сохранены в транспондере радиочастотной идентификации (RFID-метке).

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое соблюдение Руководства по эксплуатации анализатора обеспечивает надлежащее выполнение анализа.

Анализатор LIAISON®: Каждый тестовый параметр идентифицируется через штрих-код на этикетке модуля реагентов. Если этикетка со штрих-кодом не может быть считана анализатором, модуль не может использоваться. Не выбрасывайте модуль реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки DiaSorin для получения указаний.

Анализатор LIAISON® XL: Каждый тестовый параметр идентифицируется через информацию, закодированную в транспондере радиочастотной идентификации (RFID-метке) модуля реагентов. Если RFID-метка не может быть считана анализатором, модуль не может использоваться. Не выбрасывайте

модуль реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки DiaSorin для получения указаний.

Операции Анализатора заключаются в следующем:

1. Распределяет калибраторы, контроли или образцы в реакционный модуль.
2. Распределяет покрытые магнитные частицы.
3. Распределяет конъюгат.
4. Инкубирует.
5. Промывает при помощи Промывочной/Системной жидкости.
6. Добавляет Стартовый набор и измеряет излучаемый свет.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Необходимо запускать прогон контролей LIAISON® в одной повторности для контроля характеристик теста. Контроль качества, проводимый посредством прогона контролей LIAISON® HBeAg должен проводиться

(а) минимум один раз в день использования

(б) каждый раз, когда используется новый модуль реагентов

(в) каждый раз при калибровке набора

(г) каждый раз, когда используется новая серия Стартовых реагентов

(д) для оценки надлежащих характеристик модуля, вскрытого более восьми недель назад, или в соответствии с руководствами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контрольные значения должны находиться в пределах ожидаемых диапазонов: если значения одного или обоих контролей выходят за рамки ожидаемых диапазонов, калибровка должна быть повторена, а контроли должны тестироваться повторно. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, опять выходят за пределы заданных диапазонов, тестирование следует повторить с использованием запечатанного флакона с контролем. Если контрольные значения окажутся за пределами ожидаемых диапазонов, результаты по такому пациенту не регистрируются.

Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным тестом до момента их использования. Затем должны быть установлены соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически подсчитывает концентрации антигена е вируса гепатита В, выраженные в PEI Ед/мл, и определяет результаты. Для получения дополнительной информации, смотрите Руководство по эксплуатации анализатора.

Калибраторы и контроли могут выдавать различные значения относительных световых единиц (RLU) или результаты дозы на анализаторах LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты пациентов будут эквивалентны. Пороговое значение, определяемое между наличием и отсутствием HBeAg составляет 0.10 PEI Ед/мл. Результаты для образца должны быть интерпретированы следующим образом:

Образцы с концентрацией HBeAg ниже 0.09 PEI Ед/мл должны быть определены, как отрицательные.

Образцы с концентрацией HBeAg в диапазоне от 0.09 до 0.11 PEI Ед/мл должны быть определены, как сомнительные. Сомнительные образцы должны быть повторно протестированы в двух повторностях для подтверждения изначального результата.

Образцы с концентрацией HBeAg равной или превышающей 0.11 PEI Ед/мл должны быть определены, как положительные.

Диапазон теста. От 0.01 до 120 PEI Ед/мл HBeAg.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Для получения надежных результатов требуется наличие умений и строгое соблюдение инструкций.

Бактериальное загрязнение или тепловая инактивация образцов может повлиять на результаты теста.

Образцы, взятые у пациентов, получающих препараты, содержащие мышинные моноклональные антитела, для лечения или диагностики, могут содержать человеческие антимышинные антитела (НАМА). Такие образцы могут вносить помехи в иммунологические анализы, основанные на моноклональных антителах, а их результаты следует оценивать с осторожностью.

Результаты теста отмечаются количественно, как положительные или отрицательные в отношении присутствия HBeAg. Однако, диагностика инфекционных заболеваний не должна основываться только на результате теста; должны также быть изучены результаты клинических исследований, проведены другие диагностические процедуры и получено медицинское заключение.

Не следует производить обмен модулями между типами анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL). После того, как модуль был помещен в определенный тип анализатора, он должен всегда использоваться на этом анализаторе вплоть до его окончания. По причине прослеживаемости, вытекающей из вышеуказанного утверждения, последующие исследования для пациента не должны проводиться на разных типах анализаторов. Они должны проводиться на одном определенном типе анализатора (или LIAISON® или LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность определяется, как способность теста точно определять специфический аналит в присутствии потенциально мешающих факторов в матрице проб (напр. антикоагулянты, гемолиз, последствия обработки образца) или перекрестных антител.

Интерференция. Контролируемые исследования потенциально интерферирующих веществ или условий показали, что на выполнение анализа не повлияли антикоагулянты (цитрат, ЭДТА, гепарин), гемолиз (до 1000 мг/дл гемоглобина), липемия (до 500 мг/дл триглицеридов), билирубинемия (до 5 мг/дл билирубина) или повторные циклы замораживания-оттаивания образцов.

Перекрестные реакции. Как правило присутствие потенциальных антител перекрестной реактивности не оказывает влияние на тест. Были исследованы следующие антитела: (а) иммуноглобулины к различным инфекционным агентам, таким как цитомегаловирус человека (hCMV), вирус простого герпеса (HSV), вирус Эпштейна-Барр (EBV), вирус краснухи, вирус гепатита С (ВГС), ВИЧ, Т-лимфотропный вирус человека (HTLV-I/II), вирус гепатита А (ВГА), Токсоплазма гонди (*Toxoplasma gondii*), Бледная трепонема (*Treponema pallidum*); (б) антинуклеарные антитела (ANA), человеческие антимышьи антитела (НАМА), гетерофильные антитела, гипергаммаглобулины, и антитела к ревматоидному фактору (анти-Fc иммуноглобулин).

15.2. Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность может быть также выражена как предел обнаружения, который представляет собой минимальное количество специфического аналита, которое может быть определено при помощи теста. Оно было установлено, на уровне 0.1 PEI Ед/мл Эталонного HBe-антигена 82 Института имени Пауля Эрлиха, Германия).

15.3. Прецизионность при использовании Анализатора LIAISON®

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфического аналита, были исследованы для определения повторяемости и воспроизводимости теста (т.е. внутрианалитической и межаналитической вариативности). Вариативность, указанная в таблицах ниже, не является ошибкой в классификации образца.

Повторяемость	A	B	C	D
Количество определений	21	21	21	21
Среднее (PEI Ед/мл)	0.12	0.18	0.75	9.87
Стандартное отклонение	0.01	0.01	0.04	0.79
Коэффициент вариации (%)	9.5	4.4	4.9	8.0
Воспроизводимость	A	B	C	E
Количество определений	20	20	20	20
Среднее (PEI Ед/мл)	0.13	0.24	0.49	16.07
Стандартное отклонение	0.02	0.03	0.08	2.81
Коэффициент вариации (%)	12.5	11.7	15.6	17.5

15.4. Прецизионность при использовании Анализатора LIAISON® XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфического аналита, были исследованы для определения повторяемости и воспроизводимости теста (т.е. внутрисерийную и межсерийную вариативность). Вариативность, указанная в таблицах ниже, не является ошибкой в классификации образца.

Повторяемость: Для оценки повторяемости в одном прогоне были исследованы двадцать повторностей.

Повторяемость	1	2	3	4	5	6	7	Отриц. Контр.	Полож. Контр.
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (PEI Ед/мл)	0.088	0.130	0.217	0.332	1.89	3.74	6.94	0.019	0.489
Стандартное отклонение	0.006	0.004	0.010	0.033	0.084	0.12	0.19	0.003	0.017
Коэффициент вариации (%)	6.9	3.0	4.6	10.1	4.4	3.1	2.8	13.7	3.4
Мин. значение	0.075	0.121	0.196	0.300	1.74	3.37	6.55	0.013	0.442
Макс. значение	0.098	0.135	0.231	0.429	2.03	3.87	7.24	0.023	0.520

Воспроизводимость: Для оценки воспроизводимости были исследованы двадцать повторностей в разные дни (один или два прогона в день).

Воспроизводимость	1	2	3	8	5	6	7	Отриц. Контр.	Полож. Контр.
Количество определений	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее (PEI Ед/мл)	0.086	0.122	0.196	0.336	1.93	3.67	6.93	0.015	0.483
Стандартное отклонение	0.005	0.006	0.013	0.020	0.091	0.19	0.19	0.003	0.022
Коэффициент вариации (%)	5.9	4.5	6.5	5.9	4.7	5.3	2.8	22.4	4.5
Мин. значение	0.076	0.111	0.176	0.306	1.80	3.37	6.44	0.010	0.448
Макс. значение	0.095	0.136	0.220	0.376	2.15	4.04	7.23	0.025	0.524

15.5. Верность

Верность теста проверялась методом серийных разведений.

Метод серийных разведений. Три образца сыворотки, содержащие высокие концентрации HBeAg, были исследованы в чистом виде и далее посредством серийного разведения с помощью отрицательного образца. Измеренные концентрации HBeAg были сравнены с ожидаемыми концентрациями посредством линейной регрессии. Коэффициенты корреляции (r) находились в диапазоне от 0.998 до 0.999.

Разведение	Ожидаемая концентрация, PEI Ед/мл	Измеренная концентрация, PEI Ед/мл	% Восстановления	Разведение	Ожидаемая концентрация, PEI Ед/мл	Измеренная концентрация, PEI Ед/мл	% Восстановления
чистый	—	852.10	—				
1:20	42.61	45.04	105.7				
1:40	21.30	20.90	98.1				
1:80	10.65	8.99	84.4				
1:160	5.33	4.86	91.3				
1:320	2.66	2.45	92.0				
1:640	1.33	1.20	90.1				
1:1280	0.67	0.58	87.1				
1:2560	0.33	0.30	90.1				
чистый	—	1367.00	—	чистый	—	1795.80	—
1:40	34.18	30.42	89.0	1:40	44.90	47.75	106.4
1:80	17.09	14.59	85.4	1:80	22.45	21.33	95.0
1:160	8.54	7.60	89.0	1:160	11.22	10.45	93.1
1:320	4.27	3.31	77.5	1:320	5.61	5.64	100.5
1:640	2.14	1.72	80.5	1:640	2.81	2.67	95.2
1:1280	1.07	0.85	79.6	1:1280	1.40	1.33	94.8
1:2560	0.53	0.40	74.9	1:2560	0.70	0.69	98.4
1:5120	0.27	0.22	82.4	1:5120	0.35	0.36	102.6
1:10240	0.13	0.13	97.4				

15.6. Сверхдозовый «хук»-эффект

Во всех случаях, когда образцы, содержащие чрезвычайно высокие концентрации антигена, тестируются с помощью одноэтапного «сэндвич»-метода, сверхдозовый «хук»-эффект может имитировать концентрации более низкие, чем существуют на самом деле. Использование двух моноклональных антител, направленных на два разных эпитопа, однако, теоретически исключает возникновение хук-эффекта, поскольку наихудшим сценарием будет присутствие избытка антигена. Для правильного количественного определения, образцы, содержащие уровни, превышающие уровни диапазона теста, должны быть разведены отрицательным образцом и повторно протестированы. В таком случае результаты должны быть умножены на коэффициент разведения для получения уровней неразведенных образцов. Набор был спроектирован таким образом, что дозы до 500 PEI Ед/мл HBeAg продуцируют аналитический сигнал, который будет выше диапазона теста.

Анализ «хук»-эффекта осуществлялся посредством тестирования одного образца с высокими титрами, положительного к HBeAg. Результатом данного образца стало значение концентрации выше диапазона теста, которое ожидается для сыворотки с высокими титрами, что указывает на то, что ошибка в классификации образца отсутствует.

15.7. Диагностическая специфичность и чувствительность

Диагностическая специфичность и чувствительность оценивались посредством тестирования 1934 образцов, полученных от различной отобранной популяции (доноры крови, лица, никогда не имевшие ВГВ инфекции, беременные женщины, диализные пациенты, реципиенты трансплантата, лица, перенесшие ВГВ инфекцию, лица, вакцинированные ВГВ, пациенты, имеющие ВГВ). Образцы исследовались несколькими сравнительными методами и к ним применялась единая позиция, а также доступные клинические и серологические данные для определения ожидаемых результатов. 9 образцов были не подтверждены эталонными методами, и поэтому были исключены из анализа данных.

8 положительных, 4 сомнительных и 1716 отрицательных результата были получены при первом тесте, проведенном в исследуемой ожидаемо отрицательной популяции – диагностическая специфичность составила: 99.31% (95% доверительный интервал: 98.79-99.64%).

8 положительных и 1720 отрицательных результата были получены при повторном тесте сомнительных образцов в исследуемой ожидаемо отрицательной популяции - диагностическая специфичность составила: 99.54% (95% доверительный интервал: 99.09-99.80%).

Один отрицательный и 196 положительных результатов были получены при первом тесте, проведенном в исследуемой ожидаемо положительной популяции – диагностическая чувствительность составила: 99.49% (95% доверительный интервал: 97.20-99.99%).

LIAISON® HBeAg ([REF] 310150)

EN - 200/007-844, 04 - 2016-04

Изменения: -

Удаления: -

LIAISON® Control HBeAg ([REF] 310151)

1. Предназначенное применение

Контроли LIAISON® HBeAg (отрицательный и положительный) предназначены для использования в хемилюминесцентном иммунологическом анализе LIAISON® (ИХЛА), в качестве средства для проверки надежности прогонов анализа. Рабочие характеристики контролей LIAISON® HBeAg не устанавливались для других тестов или инструментальных платформ, отличных от LIAISON® и LIAISON® XL.

Анализатор LIAISON®. В сертификате анализа указана специфическая информация для серии контролей, которая должна быть вручную введена в программное обеспечение анализатора до момента загрузки флаконов с контролем на борт. Для получения дополнительной информации, смотрите Руководство по эксплуатации анализатора.

Анализатор LIAISON® XL. В сертификате анализа в штрих-кодах зашифрована специфическая информация для серии контролей, которая должна быть считана ручным считывающим устройством для штрих-кодов Анализатора LIAISON® XL до момента загрузки флаконов с контролем на борт. Для получения дополнительной информации, смотрите руководство по эксплуатации анализатора.

2. Предоставляемые материалы

Отрицательный контроль (2 x 4.0 мл)	CONTROL-	Человеческая сыворотка/плазма, не содержащая HBeAg, с TRIS буфером, 0.2% ProClin® 300 и консервантами.
Положительный контроль (2 x 3.5 мл)	CONTROL+	Человеческая сыворотка/плазма, содержащая HBeAg (полученные в E. coli, методом рекомбинантных ДНК), TRIS буфер, 0.2% ProClin® 300, консерванты и инертный оранжевый краситель.

Все реагенты поставляются готовыми к использованию. Диапазон концентраций для каждого контроля указывается в сертификате анализа и определяет пределы, установленные компанией DiaSorin для контрольных значений, которые могут быть получены в надежных прогонах. Каждая лаборатория несет ответственность за введение различных пределов с учетом индивидуальных требований.

3. Предостережения и меры предосторожности

- Только для использования в диагностике ин-витро.
- Контроли не являются специфичными для серии набора и могут быть безопасно взаимозаменяемыми между различными сериями модуля реагентов.
- Все материалы, используемые для производства компонентов, представленных в данном наборе, были протестированы на наличие поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к вирусу гепатита С, антител к ВИЧ-1, антител к ВИЧ-2, и были признаны нереактивными. Поскольку, ни один метод тестирования не может дать абсолютной гарантии отсутствия патогенов, то все образцы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные и с ними следует обращаться с осторожностью.
- Соблюдайте стандартные меры предосторожности при работе со всеми лабораторными реагентами.
- Утилизация всех отходов должна производиться в соответствии с местными нормативными требованиями.

4. Меры безопасности

Не ешьте, не пейте, не курите и не пользуйтесь косметикой в аналитической лаборатории.


Не пипетируйте при помощи рта.

Избегайте прямого контакта с потенциально инфицированным материалом; используйте лабораторную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки. По окончании каждого теста тщательно мойте руки.

Избегайте разбрызгивания или образования аэрозоля. Все капли биологического реагента должны быть удалены с помощью раствора гипохлорита натрия с содержанием 0.5%, активного хлора, а используемые для этого средства должны рассматриваться как зараженные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для анализа, должны рассматриваться как потенциально способные передавать возбудителей инфекции. Отходы должны обрабатываться с осторожностью и утилизироваться в соответствии с лабораторными руководствами и законодательными положениями, действующими в каждой стране. Любые материалы, предполагающие повторное использование, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местным законодательством и руководствами. Проверьте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания. Не используйте наборы или компоненты после даты истечения срока годности, указанной на этикетке.

В соответствии с Постановлением ЕС 1272/2008 (Классификация, маркировка, упаковка) опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом.

РЕАГЕНТЫ:	CONTROL- , CONTROL+ , ,
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Кожный аллерген 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Предупреждение (Warning)
СИМВОЛЫ / ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 Восклицательный знак
ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызвать аллергическую реакцию кожи
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:	P261 Избегайте вдыхания пыли / дыма / газа / взвесей / паров / аэрозолей. P280 Используйте защитные перчатки / защитную одежду / средства защиты глаз / средства защиты лица. P363 Перед повторным использованием стирайте загрязненную одежду.
СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со статьей 18 Постановления ЕС 1272/2008).	Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин -3-один [ЕС №247-500-7] и 2-метил-2Н -изотиазол-3-один [ЕС №220-239-6] (3:1) (ProClin® 300)

Для получения дополнительной информации, смотрите Паспорт безопасности материала, доступный на сайте www.diasorin.com.

5. Хранение и стабильность

После получения контроля следует хранить при температуре 2-8°C в вертикальном положении для предотвращения прилипания раствора к крышке флакона. Не замораживать. Если контроли хранятся в запечатанном виде в вертикальном положении, то они будут стабильны до даты истечения срока годности при хранении при температуре 2-8°C. После вскрытия контроли будут стабильны в течение четырех недель при надлежащем хранении при температуре 2-8°C между двумя последовательными использованиями. Избегайте бактериального загрязнения контролей. Контроли не должны использоваться после истечения срока годности, указанного на этикетках флакона.

6. Приготовление реагентов

- Поместите флаконы с контролем в корзины типа С анализатора. Каждый контрольный раствор позволяет провести минимум 20 тестов.
- Минимальный необходимый объем составляет 490 мкл (90 мкл контроль + 400 мкл мертвый объем).
- При использовании доведите контроли до комнатной температуры (20-25°C) до вскрытия флаконов и храните их на борту анализатора только в течение периода времени, который необходим для исследования контроля качества.
- После использования немедленно закупорьте флаконы и храните их при температуре 2-8°C в вертикальном положении.

- При обращении, соблюдайте необходимые меры предосторожности во избежание бактериального загрязнения контролей.

7. Обращение

Для уточнения информации о надлежащем обращении, смотрите Руководство по эксплуатации анализатора.

8. Целевые значения

Целевые значения и диапазоны концентраций антигена е вируса гепатита В (HBeAg) в контролях напечатаны в сертификате анализа. Они были определены с учетом вариабельности прогона относительно сохраненной эталонной кривой для обеспечения точности результатов анализа и получения сведений о стабильности или ухудшении свойств реагентов. Если контрольные значения постоянно выходят за пределы ожидаемых диапазонов, то скорее всего тест выполняется неправильно.

LIAISON® Control HBeAg ([REF] 310151)

EN - 200/007-844, 04 - 2016-04

Литература:

1. W.F. CARMAN et al.
Mutation preventing formation of HBeAg in patients with chronic HBV infection.
Lancet, 2 : 588-591 (1989).
2. D.S. CHEN, M.Y. LAI, S.C. LEE et al.
Serum HBsAg, HBeAg, anti-HBe, and hepatitis B viral DNA in asymptomatic carriers in Taiwan.
J. Med. Virol., 19 : 87-94 (1986).
3. A.B. CHRISTIE
Infectious Diseases: epidemiology and clinical practice, Churchill Livingstone, London, p. 447-518 (1980).
4. B.J. COHEN, J.E. RICHMOND
Electron microscopy of hepatitis B core antigen synthesized in *E. coli*.
Nature, 296 (5858) : 677-679 (1982).
5. G. DUSHEIKO, J.H. HOOFNAGLE
Hepatitis B.
In: *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, N. McIntyre et al. eds., Oxford University Press, p. 571-577 (1991).
6. M.R. ESCOBAR
Chronic viral hepatitis.
In: *Clinical Virology Manual*, S. Specter, G.J. Lancz eds., Elsevier, New York, p. 329-348 (1986).
7. M.A. FEITELSON
Biology of hepatitis B virus variants.
Lab. Invest., 71 (3) : 324 (1994).
8. W.H. GERLICH et al.
Specificity and localization of the hepatitis B virus-associated protein kinase.
J. Virol., 42 (3) : 761-766 (1982).
9. W. GERLICH, R. THOMSEN
Terminology, structure and laboratory diagnosis of hepatitis viruses.
In: *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, N. McIntyre et al. eds., Oxford University Press, p. 543-560 (1991).
10. K.H. HEERMANN et al.
Large surface proteins of hepatitis B virus containing the pre-S sequence.
J. Virol., 52 (2) : 396-402 (1984).
11. S.Z. HIRSCHMAN
Hepatitis viruses and Viral hepatitis.
In: *Infectious Diseases and Medical Microbiology*, A.I. Braude, C.E. Davis, J. Fierer eds., 2nd edition, WB Saunders, Philadelphia, p. 557-564; 989-995 (1986).
12. H.S. LEE, G.N. VYAS
Diagnosis of viral hepatitis.
Clin. Lab. Med., 7 : 741-757 (1987).
13. E.E. MAST, H.J. ALTER
Epidemiology of viral hepatitis: an overview.
Sem. in Virol., 4 : 273-283 (1993).

14. D.R. MILICH, A. McLACHLAN

The nucleocapsid of hepatitis B virus is both a T-cell-independent and a T-cell-dependent antigen.
Science, 234 (4782) : 1398-1401 (1986).

15. D. MORADPOUR, J.R. WANDS

Understanding hepatitis B virus infection.
N. E. J. Med., 332 : 1092 (1995).

16. Morbidity and Mortality Weekly Report, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, p. 43-53 (1995).

17. H. NORDER et al.

Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strain.
J. Gen. Virol., 73 : 1201-1208 (1992).

18. H.J. SCHLICHT, J. SALFELD, H. SCHALLER

The duck hepatitis B virus pre-C region encodes a signal sequence which is essential for synthesis and secretion of processed core proteins but not for virus formation.
J. Virol., 61 (12) : 3701-3709 (1987).

19. W. SZMUNESS

Recent advances in the study of the epidemiology of hepatitis B.
Am. J. Pathol., 81 (3) : 629-650 (1975).

Дополнительная литература

R.A. HEIJTINK et al.

Quantitative measurement of HBeAg in chronic hepatitis B: a comparison between a radioimmunoassay, a fluorescence ELISA and a chemiluminescence ELISA.
J. Med. Virol., 47 : 245-250 (1995).

Viral Hepatitis and Liver Disease.

Proceedings of IX Triennial International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Rome, Italy, 21-25 April 1996, M. Rizzetto, R.H. Purcell, J.L. Gerin, G. Verme eds., Edizioni Minerva Medica, Turin, Italy (1997).

200/007-844, 04 - 2016-04

Перевод соответствует оригиналу. Переводчик: Китченко Н.

